

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan tempat penelitian

Percobaan dilaksanakan dari bulan Januari hingga bulan Juni tahun 2021. Pengamatan morfologi sel pada kedelai dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi. Pengamatan morfologi dilakukan di Desa Bojong Kecamatan Cilimus Kabupaten Kuningan.

3.2. Alat dan bahan

Alat-alat yang dipakai pada penelitian ini adalah *thermohygrometer*, *beaker glass*, pH meter, blender, toples, baki persemaian, gunting, penggaris, *rotary evaporation*, mikroskop, sprayer, gelas objek, kaca penutup, tabung reaksi, lemari pendingin, pinset, silet, api bunsen, timbangan, laptop dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah benih kedelai varietas burangrang, ekstrak daun tapak dara, ethanol 96%, asam klorida (HCl) 1 N, asam asetat glasial (CH₃COOH) 45%, aceto-carmin 1%, aquadest, polybag, tanah, dan pupuk.

3.3. Metode penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan. Perlakuan yang dicoba adalah sebagai berikut:

A = kontrol (tidak direndam oleh ekstrak daun tapak dara)

B = benih direndam dalam ekstrak daun tapak dara 0,05% selama 6 jam

C = benih direndam dalam ekstrak daun tapak dara 0,05% selama 9 jam

D = benih direndam dalam ekstrak daun tapak dara 0,05% selama 12 jam

E = benih direndam dalam ekstrak daun tapak dara 0,1% selama 6 jam

F = benih direndam dalam ekstrak daun tapak dara 0,1% selama 9 jam

G = benih direndam dalam ekstrak daun tapak dara 0,1% selama 12 jam

H = benih direndam dalam ekstrak daun tapak dara 0,15% selama 6 jam

I = benih direndam dalam ekstrak daun tapak dara 0,15% selama 9 jam

J = benih direndam dalam ekstrak daun tapak dara 0,15% selama 12 jam

Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga terdapat 30 plot percobaan dengan 5 tanaman pada masing-masing plot. Berdasarkan rancangan percobaan yang dilakukan maka dapat dikemukakan model linier dari percobaan sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

dimana :

$i = 1, 2, \dots, t$ dan $j = 1, 2, \dots, r$

Y_{ij} = pengamatan pada perlakuan ke – i dan ulangan ke – j

μ = rata-rata umum

τ_i = pengaruh perlakuan ke – i

ϵ_{ij} = pengaruh acak pada perlakuan ke – i dan ulangan ke – j

Data hasil pengamatan diolah menggunakan analisis statistik yang kemudian dimasukkan ke dalam daftar sidik ragam. Berikut adalah tabel daftar sidik ragam :

Tabel 1. Daftar sidik ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hit}	F 0.05
Perlakuan	9	$\sum \frac{\tau_i^2}{r} - FK$	$\frac{JKP}{dBP}$	$\frac{KTP}{KTG}$	2,39
Galat	20	JK(T) – JK (P)	$\frac{JGK}{dBG}$		
Total	29	$\sum Xi^2 - FK$			

Sumber : Gomez dan Gomez (2010)

Tabel 2. Kaidah pengambilan keputusan

Hasil analisis	Kesimpulan analisis	Keterangan
$F_{hit} \leq F_{5\%}$	Berbeda tidak nyata	Tidak terdapat perbedaan yg nyata antar perlakuan
$F_{hit} > F_{5\%}$	Berbeda nyata	Terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan

Sumber : Gomez dan Gomez (2010)

Apabila nilai F_{hitung} menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%, dengan rumus sebagai berikut:

$$LSR (\alpha, dbg, p) = SSR (\alpha, dbg, p) \times Sx$$

LSR = *Least significant range*

SSR = *Student zed Significant Range*

dbg = derajat bebas galat

α = taraf nyata

p = rentang perlakuan

Sx = Simpangan baku rata-rata perlakuan

Nilai Sx dapat diperoleh dari rumus berikut :

$$Sx = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{r}}$$

3.4. Pelaksanaan penelitian

3.4.1. Pembuatan ekstrak daun tapak dara

Pembuatan ekstrak daun tapak dara dilakukan dengan metode maserasi rekomendasi dari Putri dkk., (2017). Daun tapak dara yang terlihat hijau dan segar diambil kemudian dicuci hingga bersih dan dijemur dibawah sinar matahari langsung sampai benar-benar kering. Setelah kering daun tapak dara tersebut dihaluskan hingga menjadi serbuk. Serbuk daun tapak dara sebanyak 400 gram kemudian dilarutkan dalam 2 Liter ethanol 96% dan diaduk sampai terlihat larut, maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dengan beberapa kali pengadukan. Setelah proses maserasi, dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Maserat dari hasil penyaringan kemudian dibawa ke laboratorium untuk diuapkan menggunakan *Rotary evaporator* dengan suhu 50° C dan kecepatan 60 rpm sampai semua ethanol menguap dan tersisa ekstrak kental sebanyak 29,18 gram.

3.4.2. Perendaman benih

Benih kedelai varietas Burangrang yang didapat dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi) direndam dalam larutan ekstrak

daun tapak dara yang telah dilakukan pengenceran dengan konsentrasi sesuai perlakuan yaitu 0,05%, 0,1% dan 0,15% (Lampiran 12). Waktu yang digunakan untuk merendam benih kedelai sesuai dengan perlakuan yang dicoba yaitu 6, 9, dan 12 jam.

3.4.3. Penanaman dan pemeliharaan

a. Penanaman

Benih kedelai yang kontrol dan yang telah direndam dengan ekstrak daun tapak dara ditanam pada media tanaman tanah, pupuk kandang dan sekam dengan perbandingan 2:1:1 pada polybag berukuran 30 cm x 30 cm. penanaman dilakukan di dalam naungan dengan jarak 10 cm untuk setiap polybag dan 30 cm untuk setiap perlakuan. Dalam percobaan ini terdapat 30 plot percobaan dengan 5 tanaman pada setiap plot.

b. Pemeliharaan

Beberapa pemeliharaan dilakukan pada tanaman kedelai agar menghasilkan tanaman yang diharapkan, diantaranya yaitu penyiraman, pemupukan, penyiangan dan pengendalian organisme pengganggu tanaman (OPT). Penyiraman dilakukan 1 kali sehari pada sore hari. Pemupukan dilakukan pada saat kedelai berumur 9 HST, dosis pupuk yang diberikan adalah 5 gram urea + 10 gram SP 36 + 5 gram KCl dilarutkan dalam 1 liter air, kemudian disiramkan ke tanaman sebanyak 100 ml per tanaman. Penyiangan dilakukan sesering mungkin untuk meminimalisir terjadinya persaingan antara gulma dengan kedelai. Pengendalian OPT dilakukan dengan cara mengambil secara langsung hama yang menyerang daun kedelai.

3.4.4. Pembuatan preparat kromosom

Pembuatan preparat kromosom dilakukan menggunakan metode *squash* yang telah dimodifikasi oleh Winarto (2011). Benih kedelai kontrol dan hasil perendaman dengan ekstrak daun tapak dara dikecambahkan selama 2 hari, kemudian ujung akar kedelai dipotong kurang lebih sepanjang 3 cm. Pengambilan akar kedelai ini dilakukan pada pagi hari pukul 07.30, karena sel-sel pada akar kedelai aktif membelah pada pukul 07.00 hingga 10.00 pagi (Wardhani dan Wiendi, 2015).

Ujung akar kedelai yang telah dipotong kemudian di fiksasi menggunakan larutan asam asetat glasial (CH_3COOH) 45% selama 15 menit dalam lemari pendingin bersuhu 4°C , setelah itu dicuci menggunakan aquadest sebanyak 3 kali. Setelah difiksasi ujung akar kedelai dimaserasi menggunakan larutan asam klorida (HCl) 1 N selama 5 menit dan dipanaskan pada suhu 60°C diatas api bunsen, setelah itu kemudian dicuci kembali menggunakan aquadest sebanyak 3 kali. Setelah itu dilakukan pewarnaan pada ujung akar kedelai menggunakan aceto-carmine 1% selama 3 jam sampai ujung akar berubah menjadi berwarna merah. Setelah dilakukan pewarnaan, ujung akar kedelai dipotong sampai tersisa kurang lebih 2 mm, kemudian simpan di atas gelas objek dan ditetesi gliserin kemudian di tutup dengan kaca penutup dan diketuk-ketuk menggunakan ujung pensil sampai akar terlihat menyebar. Setelah preparat dibuat kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x dan 400x.

3.5. Parameter pengamatan

3.5.1. Parameter penunjang

Pengamatan pada parameter ini bertujuan untuk mengetahui faktor-faktor eksternal yang mungkin dapat berpengaruh terhadap jalannya penelitian. Beberapa parameter penunjang adalah sebagai berikut:

- a. Suhu dan kelembaban, diukur menggunakan *thermohygrometer*
- b. pH tanah, diukur menggunakan pH meter
- c. Organisme pengganggu tanaman (OPT)

3.5.2. Pengamatan morfologi sel

Pengamatan ini bertujuan untuk mengetahui apakah terjadi perubahan sel pada kedelai akibat dari perendaman dalam ekstrak daun tapak dara. Pengamatan ini menggunakan metode pewarnaan konvensional dengan teknik squashing. Pengamatan ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi.

3.5.3. Karakter morfologi dan hasil kedelai

Pengamatan ini bertujuan untuk mengetahui karakter morfologi dan hasil kedelai akibat adanya pengaruh dari perendaman benih dalam ekstrak daun tapak dara. Beberapa karakter morfologi dan hasil yang diamati adalah sebagai berikut:

a. Tinggi tanaman

Tinggi tanaman diukur dari pangkal batang bagian bawah hingga ke pucuk tertinggi dari tanaman kedelai menggunakan penggaris. Tinggi tanaman diamati pada umur 30 HST.

b. Luas daun

Luas daun diukur dengan menggunakan metode *non-destructive* yaitu mengukur luas daun tanpa harus memetik atau merusak daun tersebut. Pengukuran luas daun pada penelitian ini menggunakan aplikasi Image-J yang dilakukan pada umur 30 HST.

c. Panjang akar

Panjang akar dihitung dari pangkal akar hingga ujung akar. Pengamatan ini dilakukan pada saat tanaman sudah dipanen dan dicabut dari media tanam.

d. Panjang polong per tanaman

Panjang polong diukur menggunakan penggaris dari pangkal hingga ujung setelah panen.

e. Jumlah polong

Jumlah polong yang dihitung adalah pada setiap tanaman, perhitungan jumlah polong dilakukan ketika panen tiba.

f. Bobot 100 biji

Bobot 100 biji dihitung setelah panen, polong yang berisi biji dibuka kemudian dihitung sampai 100 kemudian ditimbang.

g. Bobot biji per tanaman

Bobot biji pertanaman dihitung setelah panen, polong dari setiap tanaman dibuka kemudian ditimbang secara bersamaan.